

Un nouveau Protiste, du genre
Dermocystidium, parasite de la Grenouille.

Dermocystidium ranae nov. spec.

PAR

E. GUYÉNOT et A. NAVILLE

Avec 5 figures dans le texte.

Le parasite encore énigmatique, désigné sous le nom générique de *Dermocystidium*, n'a été observé jusqu'à présent que sur la peau de Tritons et sur les branchies de Salmonides. Nous venons d'en découvrir une troisième forme, parasite de la Grenouille rousse, *Rana temporaria*.

C'est en 1907 que ce type de parasite a été signalé pour la première fois par Ch. PÉREZ. L'auteur observa des *Triton marmoratus* dont la peau présentait de petites pustules blanchâtres, d'environ 1^{mm} de diamètre, plus ou moins saillantes, siégeant dans la couche sous épidermique ou dans le tissu conjonctif sous cutané. Ces pustules étaient déterminées par la présence de kystes, de forme irrégulièrement arrondie, pourvus d'une mince membrane d'enveloppe. Chacun d'eux était uniformément rempli de petits corps sphériques, ayant 8 à 10 μ de diamètre et renfermant une grosse inclusion réfringente. Ces éléments sont formés d'un réseau protoplasmique entouré d'une fine membrane, contre laquelle se trouve un petit noyau à chromatine très dense. Le réseau protoplasmique renferme çà et là quelques grains, fortement colorables. La partie centrale de la sphère est occupée par une volumineuse inclusion, que le

protoplasme entoure à la façon d'un anneau irrégulier. Cette inclusion ne présente ni les réactions des corps gras, ni celles de l'amidon ou du glycogène. Sa masse se colore en rose par l'éosine, ou en bleu pâle par le picro-indigo-carmin. Elle présente une structure concrétionnée, attestée par l'existence d'orbes concentriques surtout visibles après coloration par l'hématoxyline ferrique; la zone centrale reste en outre colorée d'une façon plus intense, constituée par un grain unique ou par un amas de granules. Comparant ces corps aux sphérules albuminoïdes des cellules adipeuses de beaucoup d'Insectes, PÉREZ pense que cette inclusion doit avoir la valeur d'une matière de réserve de nature indéterminée.

Le kyste lui-même est entouré par une membrane continue, à affinités colorantes spéciales, aussi nettement délimitée en dedans qu'en dehors, et que l'auteur a considérée à juste titre comme appartenant en propre au parasite.

Tous les kystes, observés par PÉREZ, se trouvaient au même stade de développement, tous étant uniformément bourrés de spores arrondies contenant la grosse inclusion réfringente. Le kyste peut se rompre spontanément sous la peau; les spores qui s'en échappent sont alors entourées par un amas de leucocytes polynucléaires qui les phagocytent activement. La masse des spores, entourées de leucocytes, progresse vers la surface, fait hernie sous l'épiderme, et se trouve finalement éliminée au dehors sous la forme d'une masse blanchâtre, caséeuse. La pustule vidée guérit par simple cicatrisation.

Ces spores sont, sans doute, des éléments de résistance, appartenant à un organisme dont le cycle est complètement inconnu. Maintenues en chambre humide, elles n'ont subi aucune évolution. Quelques essais d'infestation, en faisant ingérer des spores à des Tritons, n'ont donné aucun résultat: les parasites ont été retrouvés sans modification dans les excréments, et les Tritons demeurèrent indemnes.

La place systématique de ce parasite nouveau auquel PÉREZ a donné le nom de *Dermocystidium pusula*, est assez malaisée à définir. Malgré les résultats négatifs fournis par les réactifs

usuels de la cellulose et de la callose — ce qui est aussi le cas pour certains Champignons inférieurs — l'auteur est plutôt porté à considérer l'organisme étudié comme un Champignon. Il fait valoir cet argument que les spores sont exclusivement phagocytées par des leucocytes polynucléaires, alors que les Protozoaires vrais sont surtout englobés par des mononucléaires.

Le même parasite a été retrouvé, en 1913, par H. MORAL, sur un *Triton cristatus*, qui était très fortement parasité. Les observations de cet auteur ont pleinement confirmé celles de PÉREZ et n'ont rien ajouté à ce que ce dernier nous avait fait connaître de la structure des spores. Par contre, MORAL a cru devoir interpréter la membrane kystique comme n'appartenant pas en propre au parasite, mais comme étant de nature conjonctive. Les tentatives d'infestation de jeunes Tritons, de Tritons adultes et d'Axolotls n'ont donné aucun résultat. Il en fut de même des essais de cultures effectués sur divers milieux.

Une autre forme de *Dermocystidium* a été signalée indépendamment, en 1914, par DUNKERLY sur des Truites (*Trutta fario*) d'Irlande et par LÉGER sur des Truites des Alpes du Dauphiné. Le parasite forme des kystes sur les branchies. Les deux kystes observés par DUNKERLY étaient délimités par une membrane épaisse et renfermant des corps arrondis ou polygonaux, pourvus d'un noyau et d'une volumineuse inclusion. Cette dernière est cependant, d'après les figures de l'auteur, beaucoup moins grosse que l'inclusion contenue dans les spores de *Dermocystidium pusula* Pérez. Les kystes observés par LÉGER étaient arrondis, mesurant de 200 à 500 μ . Leur contenu était formé de spores rondes, à noyau périphérique unique; elles mesuraient de 7 à 8 μ et renfermaient une grosse inclusion caractéristique ne noircissant pas par l'acide osmique, mais se colorant en rose par la teinture d'Alkanna. Ce qui fait l'intérêt de ce parasite, que DUNKERLY n'a pas cru devoir considérer comme une espèce particulière et que LÉGER a décrit sous le nom de *Dermocystidium branchialis*, c'est que dans ces deux cas les auteurs ont pu observer quelques stades antérieurs à la formation des spores. Le kyste observé par DUNKERLY présentait une zone

périphérique, constituée par une masse plasmodiale renfermant de nombreux noyaux, avec de rares figures de division. Ailleurs, on voit le protoplasme s'individualiser autour de ces noyaux, former de petites masses sphériques à contours de plus en plus nets, mais de taille très inférieure à celle des spores. L'auteur pense que ces formations, que nous pouvons appeler des sporoblastes, augmenteraient de volume, s'entoureraient d'une membrane et sécrèteraient à leur intérieur l'inclusion centrale. Les sporoblastes se transformeraient directement en spores.

LÉGER a, de son côté, observé des kystes très jeunes, à membrane déjà nette, qui ne contenaient qu'une masse cytoplasmique granuleuse, semée de noyaux très petits et étirés en fuseaux. Dans des kystes plus âgés, on voit le cytoplasme s'individualiser autour des noyaux, constituant autant de sporoblastes dont la taille (5 à 6 μ) est notablement inférieure à celle des spores (7 à 8 μ). LÉGER a émis l'hypothèse que les spores résulteraient de l'union de deux sporoblastes, ce que paraît confirmer l'existence dans certaines spores de deux noyaux. Le corps central de réserve serait élaboré en même temps que la paroi sporale est sécrétée. L'auteur a proposé de placer, au moins provisoirement, ces organismes parmi les Haplosporidies.

C'est à ces quelques données que se réduisent actuellement nos connaissances sur le cycle évolutif de ces singuliers parasites. En 1910, ALEXEIEFF a indiqué une parenté possible du *Dermocystidium* avec des formations problématiques que l'on rencontre dans l'intestin de divers animaux, notamment de Batraciens, et qu'il a considérées d'abord comme des kystes de Flagellés, puis comme des Levures. Le rapprochement entre ces formes et le *Dermocystidium* est des plus discutables.

En 1914, DE BEAUCHAMP a cru pouvoir identifier le *Dermocystidium pusula* avec une Chytridinée. L'auteur avait vu se développer au bout d'une ou deux semaines de captivité, sur des *Triton palmatus*, de Fontainebleau, des petits kystes cutanés, blancs, dont l'aspect extérieur rappelait celui des kystes de *Dermocystidium*. Le contenu était formé d'éléments fusiformes de 3 μ sur 8 μ , qui s'arrondissent, grossissent, s'en-

turent d'une membrane et présentent une division multiple de leur noyau. Ces éléments se transforment en sporanges de $13\ \mu$ sur $10\ \mu$, à l'intérieur desquels se forment de petites spores piriformes ou sphériques; mises en liberté par écrasement du sporange, ces spores nagent avec un long flagelle. Ces spores ne présentent aucune trace de l'inclusion si caractéristique des *Dermocystidium*. Il est très vraisemblable que ce parasite est, en effet, un Champignon du groupe des Chytridinées, mais l'assimilation que fait cet auteur, du parasite qu'il a étudié avec le *Dermocystidium*, n'est basée que sur des analogies très superficielles. Les deux parasites n'ont de commun que l'aspect extérieur de leurs kystes, la localisation de ces derniers, et le fait si banal que tous deux peuvent être phagocytés. La rapidité d'évolution du parasite décrit par DE BEAUCHAMP, et surtout l'absence de l'inclusion caractéristique paraissent différencier complètement ces deux organismes.

Nous avons eu l'occasion, pendant l'hiver 1918-1919, d'observer plusieurs *Triton cristatus* des environs de Genève, parasités par des *Dermocystidium pusula* PÉREZ. Comme dans les cas étudiés par PÉREZ et par MORAL, les kystes étaient tous au même état d'évolution et ne renfermaient que des spores rondes à grosse inclusion caractéristique. Nous ne signalons ici ce fait que pour indiquer que nous possédons des éléments de comparaison entre le *Dermocystidium* du Triton et celui de la Grenouille que nous allons maintenant décrire.

En examinant, au mois de novembre 1921, un lot de 200 *Rana temporaria*, provenant de Bonfol (Jura bernois), nous avons remarqué la présence sur une douzaine d'individus d'un ou de plusieurs kystes de forme très spéciale. Ces kystes se rencontrent indifféremment sur la peau du ventre, du dos ou des pattes postérieures. Certains individus présentent de nombreux kystes, localisés surtout dans la peau entourant l'orifice anal. Les kystes sont sous cutanés ou sous épidermiques, formant dans ce cas une saillie notable. A l'intérieur du kyste conjonctif, de forme arrondie, l'examen à la loupe montre, d'une façon constante, l'existence d'un boyau d'un blanc éclatant,

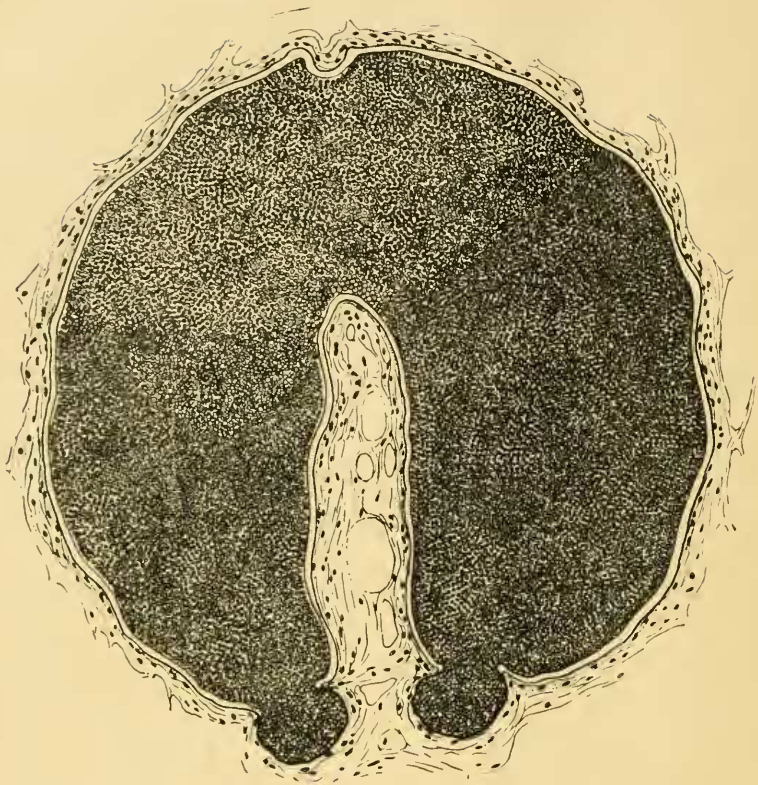


FIG. 1. — Coupe à travers un kyste de *Dermocystidium ranae*, pratiquée parallèlement à la surface de la peau.

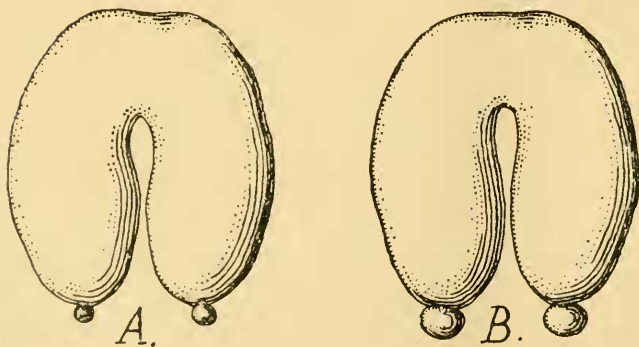


FIG. 2, A et B. — Aspect extérieur de deux kystes de *Dermocystidium ranae*, extraits de leur enveloppe conjonctive sous cutanée.

tendu, rénitent, mesurant environ deux millimètres de longueur, et dont la forme est tout à fait caractéristique. Ce n'est plus, comme dans les cas signalés jusqu'à présent, un corps vaguement sphérique ou ovoïde. Le boyau est recourbé en U et présente ainsi deux parties symétriques renflées, séparées l'une de l'autre par un peu de tissu conjonctif de l'hôte, mais réunies à leur base par une zone moyenne un peu moins épaisse (fig. 1). Les deux extrémités libres de chaque branche portent chacune une petite saillie ou bouton presque sphérique, de dimension variable, reliée à la masse générale par un col (fig. 2, A et B). Cette forme très singulière du kyste est, répétons-le, absolument constante. Ce fait montre, sans doute possible, que la paroi du kyste appartient en propre au parasite et que, sur ce point, l'opinion de PÉREZ était exacte. La membrane, assez épaisse, résistante et lisse, ne présente ni stries ni ornements.

Lorsqu'on a soigneusement énucléé le boyau kystique et qu'on le comprime graduellement, on voit les petits renflements terminaux de chaque branche se gonfler, puis éclater en laissant échapper un nombre immense de spores rondes, caractérisées au premier examen par une grosse inclusion réfringente.

L'étude du kyste, au moyen des coupes (fig. 1), montre que la masse de spores est entourée par une membrane propre, lamelleuse, colorable en rose par l'éosine, en noir par l'hématoxyline ferrique, en rouge par le panchrôme de LAVERAN. Cette membrane est considérablement plus mince sur les deux boutons terminaux. Ceux-ci paraissent représenter des parties plus minces de la membrane, dilatées par la pression du contenu, et c'est au niveau de ces points faibles que se fait la rupture mettant les spores en liberté. La paroi propre du kyste est entourée par une deuxième coque, constituée par du tissu fibreux et représentant la seule manifestation réactionnelle de l'hôte vis-à-vis du parasite.

Les spores mesurent de 7 à 9 μ de diamètre environ ; il en est de plus petites et de plus grosses. Leur forme est assez régulièrement arrondie. Sur les coupes aussi bien que dans les frottis, elles sont généralement rattachées les unes aux autres

par de fins tractus dessinant une sorte de réseau (fig. 3). Entre les spores se trouvent de nombreux débris colorables, souvent en forme de lentille biconcave, par suite de la pression des spores adjacentes.

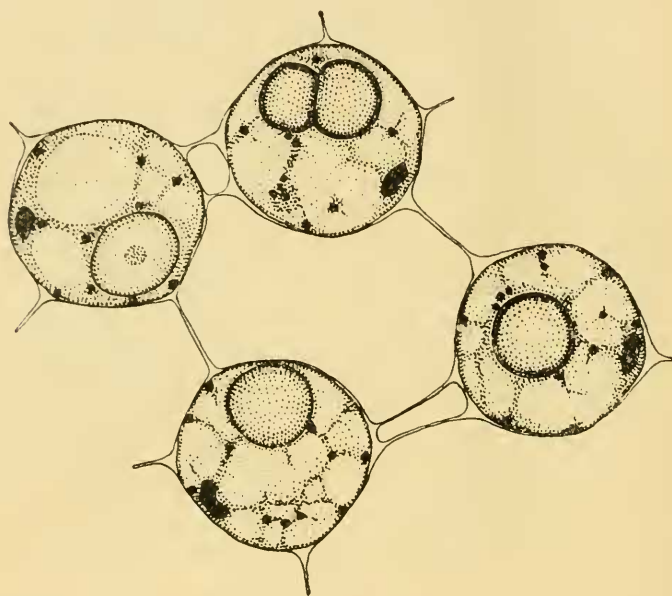


FIG. 3. — Quatre spores de *Dermocystidium ranae*, rêmiées les unes aux autres par de fins filaments.

Les spores typiques ont un protoplasma aréolaire, renfermant çà et là des granulations dont les affinités tinctoriales se rapprochent beaucoup de celles du corps réfringent central. Le noyau, de position excentrique, se présente comme un gros grain chromatique, souvent étiré en biseau, qui paraît double dans quelques cas. Le corps central ne noircit pas par l'acide osmique et ne se colore ni en bleu ni en brun acajou par l'eau iodée. Il se colore en rose vif par l'éosine, en bleu verdâtre par le picro-indigo-carmin, en rouge par le panchrome, en noir par l'hématoxyline ferrique. Il présente assez souvent la structure concrétionnée, caractérisée par l'existence d'orbes concentriques, autour d'un point central plus colorable (fig. 4). Cette inclusion

mesure de 2 à 4, 5 μ , mais ne remplit jamais la cellule au même degré que celle du *Dermocystidium pusula*. Assez souvent, le corps central n'est pas unique, mais représenté par deux (fig. 4, C) ou trois (fig. 4, D) grosses boules de tailles souvent inégales.

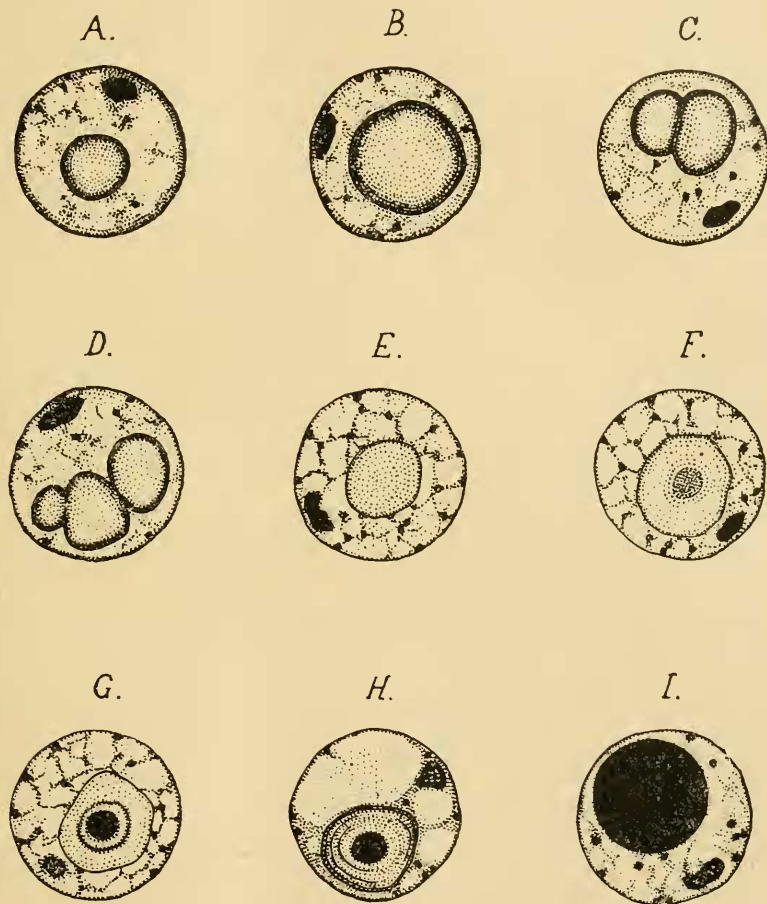


FIG. 4. — Aspects divers des spores de *Dermocystidium ranae*.

Comme dans le cas du *Dermocystidium* du Triton, les kystes que nous avons examinés ne nous ont jamais montré que des spores sans aucun stade pouvant se rapporter à la genèse de ces dernières. Par contre, nous avons observé de nombreuses

figures montrant les étapes de la formation de l'inclusion centrale.

Le point de départ se trouve dans certaines spores plus volumineuses (fig. 5, A), formées uniquement d'une masse protoplasmique et d'un noyau déjà périphérique. Le protoplasme renferme de très fines granulations éosinophiles. On voit, dans d'autres spores (fig. 5, B à D), ces granulations se rassembler en granules de plus en plus gros, formant par leur ensemble, au centre de la spore, une plage à contours très irréguliers, bourrée de ces grains éosinophiles. A un stade plus avancé (fig. 5, E), ces grains se réunissent en nombreuses boules de petites dimensions qui paraissent ailleurs (fig. 5, F) confluer en donnant naissance à une masse homogène, irrégulièrement lobée, et qui occupe une surface souvent supérieure à celle du futur corps central. Celui-ci apparaît, vraisemblablement aux dépens des amas précédents, sous la forme d'un corps sphérique éosinophile (fig. 5, G) qui devient de plus en plus dense, et prend la structure concrétionnée caractéristique (fig. 5, I).

Le mode de formation de cette inclusion, sa structure particulière, qui rappelle jusqu'à un certain point celle des corps de BALBIANI, nous a conduit à rechercher si cette formation ne serait pas de nature mitochondriale. Des pièces fixées selon la méthode de BENDA, par l'acide chromo-osmique (huit jours), puis par le mélange chromo-acétique (24 heures), traitées par le bichromate de potassium à 3 % (24 heures), ont été incluses et débitées en coupes. Les coupes après mordantage de 24 heures dans l'alun de fer neutre à 3 %, ont été colorées 24 heures par le sulfalizarinate de soude, colorées à chaud par le crystal violet de BENDA, différenciées dans l'acide acétique à 30 % et l'alcool absolu. Sur ces préparations, qui montrent de beaux chondriomes dans les éléments glandulaires de la peau, les spores de *Dermocystidium ranae* présentent une inclusion centrale, colorée en violet intense, tandis que le protoplasme est légèrement rougeâtre. Après la même fixation, les spores colorées à l'hématoxyline ferrique conservent leur inclusion centrale colorée en noir opaque, même si l'on pousse très loin la différenciation (voir fig. 4, I).

Ces réactions colorantes sont évidemment en faveur de la nature mitochondriale de l'inclusion si caractéristique des spores du parasite.

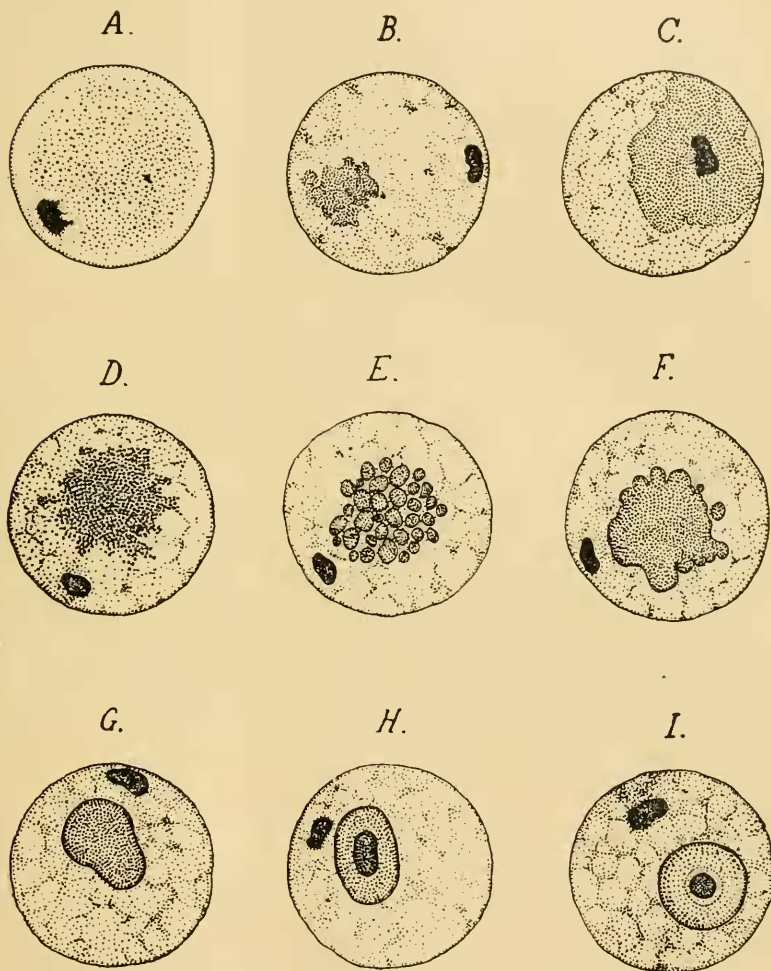


FIG. 5. — Divers stades de la formation du corps central des spores de *Dermocystidium ranae*.

La description que nous venons de donner, et la comparaison avec le parasite du Triton, permettent sans aucun doute de rattacher notre parasite au genre *Dermocystidium*. En nous

basant sur la forme et les dimensions de l'inclusion centrale des spores, et surtout sur la forme constante, si caractéristique du kyste, nous croyons devoir considérer le parasite de la Grenouille comme appartenant à une forme nouvelle : *Dermocystidium ranæ* nov. spec. En l'absence de tout fait nouveau sur le cycle évolutif de ces organismes, nous nous abstenons de toute discussion relative à leur place systématique.

Signalons, en terminant, que les Grenouilles étudiées appartenaient à un lot d'animaux très anormalement parasités. Nombreux étaient les kystes cutanés dus au *Distomum squamula* ; dans un cas un kyste de la peau, à contour irrégulier, renfermait une Myxosporidie que nous décrirons ultérieurement. De nombreux Nématodes, et surtout des Echinorhynques (*Acanthocephalus ranæ*) parasitaient l'intestin. Les dernières Grenouilles, parasitées par le *Dermocystidium*, que nous avons examinées, renfermaient toutes des Echinorhynques, mais nous n'avons pu vérifier si cette coïncidence était générale, notre attention n'ayant été que tardivement attirée sur ce point. Rappelons que les Truites étudiées par DUNKERLY présentaient sur les branchies de nombreux kystes de larves de *Glochidium*, et que les Truites observées par LÉGER étaient aussi parasitées fréquemment par des Myxosporidies, des Cyathocéphales et Echinorhynques. Nous pensons que toutes ces indications ne sont pas inutiles et pourront peut-être suggérer quelques hypothèses sur le cycle évolutif du parasite.

TRAVAUX CITÉS:

- ALEXEIEFF, A. *Sur les « kystes de Trichomonas intestinalis » dans l'intestin des Batraciens*. Bull. scientifique France et Belgique, Tome 44, pp. 339-355, 2 fig., pl. 8. 1910.
- *Sur la nature des formations dites « kystes de Trychomonas intestinalis »*. C. R. Soc. Biol., Tome 71, pp. 296-298, 1 fig. 1911.
- BEAUCHAMP, P. DE. *L'évolution et les affinités des Protistes du genre Dermocystidium*. C. R. Acad. Sc. Paris, Vol. 158, p. 1359. 1914.
- DUNKERLY, J.-S. *Dermocystidium pusula Pérez, parasitic on Trutta fario*. Zool. Anz., Bd. 44, p. 179, 5 fig. 1914.
- LÉGER, L. *Sur un nouveau Protiste du genre Dermocystidium parasite de la Truite*. C. R. Acad. Sc. Paris, Vol. 158, p. 807. 1914.
- MORAL, H. *Ueber das Auftreten von Dermocystidium pusula Pérez, einem einzelligen Parasiten der Haut des Molches bei Triton cristatus*. Arch. mikrosk. Anat., Bd. 81, pp. 381-393, Taf. 29. 1913.
- PÉREZ, CH. *Dermocystidium pusula parasite de la peau des Tritons*. Arch. Zool. génér. et expér., Tome 52, pp. 343-357, pl. 14, 7 fig. 1913.
-